

(19) Japan Patent Office (JP)

(11) Japanese Unexamined Patent  
Application Publication Number

(12) Japanese Unexamined Patent  
Application Publication (A)

H1-132542

(51) Int. Cl. <sup>4</sup>	Identification codes	JPO file numbers	(43) Publication date May 25, 1989
C 07 C	47/57	8018-4H	
	45/78		
// C 07 B	57/00	340	7457-4H

Request for examination Not yet requested Number of inventions 1 (Total of 3 pages)

(54) Title of the invention	METHOD FOR OPTICAL RESOLUTION OF RACEMIC GOSSYPOL	
	(21) Japanese Patent Application	S62-290496
	(22) Date of Application	November 19, 1987
(72) Inventor	Masatake NIWA	1-93 Taragakubo, Kutsukake-chō, Toyoake-shi, Aichi-ken
(72) Inventor	Yoshimasa HIRATA	350-85 Moritaka Shinden Hakusan, Moriyama-ku, Nagoya-shi, Aichi-ken
(71) Applicant	Tomen Corporation	2-14-27 Akasaka, Minato-ku, Tōkyō-to
(74) Agent	Patent attorney Tatsuo ITO	and 1 other

SPECIFICATION

1. TITLE OF THE INVENTION

Method for optical resolution of racemic gossypol

2. SCOPE OF PATENT CLAIMS

1. A method for optical resolution of racemic gossypol characterized in that racemic gossypol is reacted with (−)-phenylalaninol in solvent, and the resultant diastereomer salts are separated by liquid chromatography.

2. A method for optical resolution of racemic gossypol as set forth in Claim 1 wherein said solvent is methanol.

3. DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION  
(FIELD OF INDUSTRIAL APPLICATION)

The present invention relates to a method for optical resolution of racemic gossypol, more specifically, a method for optical resolution of racemic gossypol whereby (+) (or −)-gossypol can be simply separated at high purity and high yield from racemic gossypol.

(PRIOR ART)

According to *Chemistry in Britain*, November 1984, page 970, it is known that gossypol contained in the meat of cottonseed and the like has (+) and (−) optical isomers. Furthermore, the gossypol obtained from one species of cotton, *Thespesia populnea*, is only (+) gossypol, but no species which produce only (−)-gossypol have been found.

This gossypol is known to have a sperm suppressant effect, but has been confirmed to produce side effects.

Namely, in animal experiments on hamsters, (±)-gossypol, which is the racemic form of gossypol, had a sperm suppressant effect, but caused anorexia as a side effect. On the other hand, (+)-gossypol alone did not produce this sort of sperm suppressant effect, while (−)-gossypol used alone had a marked sperm suppressant effect and no side effects, with the hamsters exhibiting body weight gain.

Furthermore, since the sperm suppressant effect has common points with an anticancer effect, (-)-gossypol is also promising as an anticancer drug.

In particular, it may be possible to further improve these effects for instance by introducing functional groups into (-)-gossypol.

(PROBLEM TO BE SOLVED BY THE INVENTION)

Thus, the efficient separation of racemic ( $\pm$ )-gossypol into (+)-gossypol and (-)-gossypol has been desired, but no methods that separate (+ or -) gossypol in a simple fashion at high purity and high yield have been achieved to date.

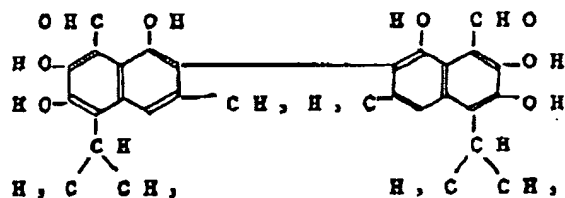
The present invention was made from this standpoint, its objective being to provide a method for optical resolution of racemic gossypol which allows (+ or -) gossypol to be obtained at high purity, high yield and in a simple fashion from racemic gossypol.

(MEANS OF SOLVING THE PROBLEM)

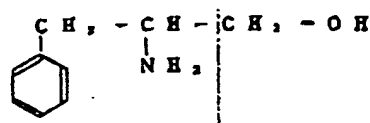
The aforementioned objective of the present invention is achieved by the following optical resolution method using (-)-phenylalaninol.

Namely, the present invention is a method for optical resolution of racemic gossypol, characterized in that racemic gossypol is reacted with (-)-phenylalaninol in solvent, and the resultant diastereomer salts are separated by liquid chromatography.

In the present invention, first, the racemic ( $\pm$ )-gossypol ( $C_{30}H_{30}O_6$ ), having the following structural formula



and (-)-phenylalaninol, having the following structural formula,



are reacted in a solvent, for instance methanol, to produce diastereomer salts, which are a Schiff base. The resultant mixture of diastereomer isomers comprises (+)-gossypol/(-)-phenylalaninol and (-)-gossypol/(-)-phenylalaninol.

This mixture is separated into (+)-gossypol/(-)-phenylalaninol and (-)-gossypol/(-)-phenylalaninol using liquid chromatography. For this liquid chromatography, one can for instance use a reverse phase filler such as ODS or C-8 as the filler, and an alcohol-water mixed solution such as methanol-water or ethanol-water as the eluent. The mixing ratio of this alcohol-water mixture can be selected as desired.

The (+)-gossypol/(-)-phenylalaninol and (-)-gossypol/(-)-phenylalaninol obtained in this manner are dissolved in a mixed solution of dimethoxyethane and water mixed for example at a mixing volume ratio of 80:20, and are heated and hydrolyzed in the presence of a small amount of concentrated sulfuric acid.

The decomposition products are separated and purified by liquid chromatography to obtain (-)-gossypol and (+)-gossypol. For this liquid chromatography, one can also for instance use a reverse phase filler such as ODS or C-8 as the filler and a mixed solution of alcohol and water, such as methanol-water or ethanol-water, mixed at any desired ratio, as the eluent.

(EXAMPLE OF EMBODIMENT)

The present invention is described more specifically below based on an example of embodiment.

#### Example of embodiment

1000 mg (1.930 mmole) of ( $\pm$ )-gossypol, which is the racemic form of gossypol, and 706 mg (4.675 mmole) of (-)-phenylalaninol were dissolved in 30 ml methanol and stirred for 10 hours at room temperature (approximately 20°C), after which the methanol was distilled off under reduced pressure, and the resultant reaction product was separated using liquid chromatography under the following conditions.

(Separation conditions)

Column: Glass column, 45 $\phi$   $\times$  490 mm, made by Sibata Scientific

Filler: Develosil ODS 30-50, made by Nomura Chemical

Eluent: Methanol-water = 95:5 (volume ratio)

Flow rate: 7.0 ml/min

1 fraction: 24.5 ml

As a result, 649 mg (yield: 42.9%) of (-)-gossypol/(-)-phenylalaninol was obtained from fractions 12 through 17, and 640 mg (yield 42.3%) of (+)-gossypol/(-)-phenylalaninol was obtained from fractions 21 through 32.

Next, a mixture of 225 mg of the obtained (-)-gossypol/(-)-phenylalaninol, 10 ml 80% dimethoxyethane solution and 10 drops of C-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> was heated and stirred for 3 hours at 60°C under a nitrogen atmosphere. After cooling, 50 ml of dichloromethane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) was added thereto, washing first with water and then with saturated saline solution and then drying on sodium sulfate. After filtering, the filtrate was concentrated under reduced pressure, and the resulting concentrate was separated using liquid chromatography under the following conditions.

(Separation conditions)

Column: Glass column, 24 $\phi$   $\times$  360 mm, made by Sibata Scientific

Filler: Develosil ODS 30-50, made by Nomura Chemical

Eluent: Methanol-water = 90:10 (volume ratio)

Flow rate: 1.0 ml/min

1 fraction: 7.0 ml

As a result, 97 mg of (-)-gossypol was obtained (yield: 65.5%). Furthermore, it had the specific rotation  $[\alpha]_D = -432^\circ$  (C = 1.99, benzene).

The same separation as above was performed for (+)-gossypol/(-)-phenylalaninol.

Namely, a mixture of 200 mg of (+)-gossypol/(-)-phenylalaninol, 10 ml of 80% dimethoxyethane solution and 10 drops of C-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> was separated in the same manner as described above.

As a result, 82 mg of (+)-gossypol was obtained (yield: 62.1%). Furthermore, it had the specific rotation  $[\alpha]_D = +416^\circ$  (C = 1.84, benzene).

(EFFECT OF THE INVENTION)

As described above, the optical resolution method of the present invention allows (+ or -)-gossypol to be obtained from racemic gossypol at high purity, high yield and in a simple fashion.

The (+ or -)-gossypol obtained in this manner, especially the (-)-gossypol, has a sperm suppressant effect and is expected to have an anticancer effect with a high possibility of increasing these effects through the introduction of functional groups, making the optical resolution method of the present invention applicable in fields such as medicine and pharmaceuticals.

Patent applicant: Tomen Corporation

Agent: Patent attorney Tatsuo ITÔ

Agent: Patent attorney Tetsuya ITÔ

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **01132542 A**(43) Date of publication of application: **25.05.89**

(51) Int. Cl.

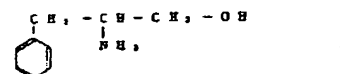
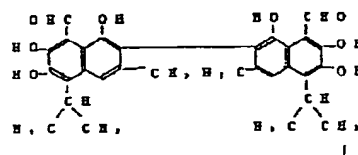
**C07C 47/57****C07C 45/78****// C07B 57/00**(21) Application number: **62290496**(22) Date of filing: **19.11.87**(71) Applicant: **TOOMEN:KK**(72) Inventor: **NIWA MASATAKE  
HIRATA YOSHIMASA**(54) **METHOD FOR OPTICALLY RESOLVING  
GOSSYPOL RACEMIC MODIFICATION**

COPYRIGHT: (C)1989, JPO&amp;Japio

(57) Abstract:

**PURPOSE:** To optically resolve a racemic modification in high purity and yield, by reacting a racemic modification of gossypol with (-)-phenylalaninol in a solvent and separating the resultant diastereomer salt with a liquid chromatography.

**CONSTITUTION:** A racemic modification of gossypol expressed by formula I is reacted with (-)-phenylalaninol in a solvent such as methanol to provide a diastereomer salt [mixture of (+)-gossypol/(-)-phenylalaninol and (-)-gossypol/(-)-phenylalaninol], which is separated into (+)-gossypol/(-)-phenylalaninol and (-)-gossypol/(-)-phenylalaninol using a liquid chromatography. The separated compounds are each hydrolyzed and then the resultant decomposed compounds are separated and purified. The resultant (-)-gossypol is useful as a spermatozoon-suppressing agent or anticancer agent.



⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平1-132542

⑬ Int. Cl.<sup>4</sup> 識別記号 庁内整理番号 ⑭ 公開 平成1年(1989)5月25日  
C 07 C 47/57 8018-4H  
45/78  
// C 07 B 57/00 340 7457-4H 審査請求 未請求 発明の数 1 (全3頁)

⑮ 発明の名称 ゴッシボールラセミ体の光学分割法

⑯ 特 願 昭62-290496

⑰ 出 願 昭62(1987)11月19日

⑱ 発 明 者 丹 羽 正 武 愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪1-93

⑲ 発 明 者 平 田 義 正 愛知県名古屋市守山区森孝新田白山350-85

⑳ 出 願 人 株式会社トーマン 東京都港区赤坂2丁目14番27号

㉑ 代 理 人 弁理士 伊東 辰雄 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

ゴッシボールラセミ体の光学分割法

2. 特許請求の範囲

1. ゴッシボールのラセミ体を(-)-フェニルアラニノールと溶媒中で反応させ、得られたジアスレオマー塩を液体クロマトグラフィーで分離することを特徴とするゴッシボールラセミ体の光学分割法。

2. 前記溶媒がメタノールである特許請求の範囲第1項記載のゴッシボールラセミ体の光学分割法。

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は、ゴッシボールラセミ体の光学分割法に関し、詳しくはゴッシボールラセミ体から(+)または(-)-ゴッシボールを高純度かつ高収率で簡便に分離するゴッシボールラセミ体の光学分割法に関する。

〔従来技術〕

ワタの種子の内部等に含まれるゴッシボール(gossypol)には、「ケミストリイ イン ブリテン (Chemistry in Britain)」、1984年11月、第970頁によれば(+)、(-)の光学異性体があることが知られている。また、錦の一種である *Thespesia populnea* より採れるゴッシボールは、(+)-ゴッシボールのみだが、(-)-ゴッシボールのみをつくる種は見つかっていない。

このゴッシボールは、精子抑制作用を有することが知られているが、副作用が生じることが確認されている。

すなわち、ハムスターによる動物実験において、ゴッシボールのラセミ体である(±)-ゴッシボールは、精子抑制作用を有するものの、副作用として食欲不振を生じる。一方、(+)-ゴッシボールのみでは、このような精子抑制作用は生じず、また(-)-ゴッシボールのみを用いた場合には、精子抑制作用を顕著に有し、副作用が生じずに、

ハムスターは体重増を示している。

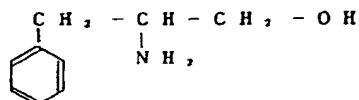
また、精子抑制作用は、抗ガン作用と共通点を有しているので、この(−)−ゴッシポールは、抗ガン剤としても期待されている。

特に、(−)−ゴッシポールに例えば官能基を導入することによって、これらの作用がさらに向上する可能性がある。

#### [発明が解決しようとする問題点]

そこで、ゴッシポールのラセミ体である(±)−ゴッシポールから(+)−ゴッシポールと(−)−ゴッシポールとを有効に分離することが望まれているが、高純度、高収率で(+)または(−)−ゴッシポールを簡便に分離する方法は未だ得られていない。

本発明は、かかる見地からなされたもので、ゴッシポールのラセミ体から(+)または(−)−ゴッシポールが高純度、高収率で、しかも簡便に得られるゴッシポールのラセミ体の光学分割法を提供することを目的とする。



を溶媒、例えばメタノール中で反応させ、シッフ塩基であるジアステレオマー塩を製造する。得られるジアステレオマー異性体の混合物は、(+)−ゴッシポール/(−)−フェニルアラニノールと(−)−ゴッシポール/(−)−フェニルアラニノールである。

このものを液体クロマトグラフィーを用いて(+)−ゴッシポール/(−)−フェニルアラニノールと(−)−ゴッシポール/(−)−フェニルアラニノールに分離する。この液体クロマトグラフィーとしては、例えば充填剤としてODS、C-8等の逆相系充填剤、溶離液としてメタノール−水、エタノール−水等のアルコール−水の混合溶液を用いる。このアルコール−水の混合比は、任意に選択される。

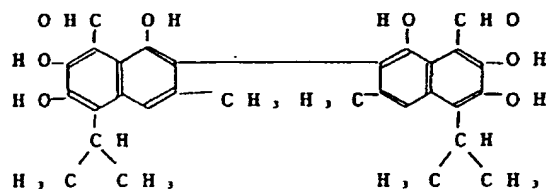
このようにして得られた(+)−ゴッシポール/(−)−フェニルアラニノールと(−)−ゴッシ

#### [問題点を解決するための手段]

本発明の上記目的は、(−)−フェニルアラニノールを用いた次に示す光学分割法により達成される。

すなわち本発明は、ゴッシポールのラセミ体を(−)−フェニルアラニノールと溶媒中で反応させ、得られたジアステレオマー塩を液体クロマトグラフィーで分離することを特徴とするゴッシポールのラセミ体の光学分割法にある。

本発明では、先ずラセミ体である下記構造式を有する(±)−ゴッシポール( $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_2$ )



と下記構造式を有する(−)−フェニルアラニノール

シポール/(−)−フェニルアラニノールをジメトキシエタンと水とを、例えば80:20の混合容量比で混合した混合溶液に溶解し、少量の濃硫酸の存在下に加熱、加水分解する。

分解物は液体クロマトグラフィーで分離、精製し、(−)−ゴッシポールおよび(+)−ゴッシポールをそれぞれ得る。この液体クロマトグラフィーも、例えば充填剤としてODS、C-8等の逆相系充填剤、溶離液としてメタノール−水、エタノール−水等のアルコール−水を任意の割合で混合した混合溶液が用いられる。

#### [実施例]

以下、実施例に基づき本発明を具体的に説明する。

#### 実施例

ゴッシポールのラセミ体である(±)−ゴッシポール1000mg(1.830 mmole)および(−)−フェニルアラニノール106mg(4.875 mmole)をメタノール30mlに溶解し、室温(約20℃)で10時間攪拌し、次いでメタノールを減圧留去後、得られ

た反応物を下記の条件で液体クロマトグラフィーを用いて分離した。

(分離条件)

カラム：柴田科学製ガラスカラム 45φ×490mm

充填剤：野村化学製 Develosil ODS 30-50

溶離液：メタノール-水=95:5(容量比)

流速：1.0ml/min

1フラクション：24.5ml

この結果、フラクション12~17から(-)-ゴッシボール/(-)-フェニルアラニノール 649mg(収率42.9%)とフラクション21~32から(+)-ゴッシボール/(-)-フェニルアラニノール 640mg(収率42.3%)を得た。

次に、得られた(-)-ゴッシボール/(-)-フェニルアラニノール 225mg、80%ジメトキシエタン溶液10ml、C-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10滴の混合物を窒素雰囲気下、60℃で3時間加熱・攪拌した。冷却後、ジクロロメタン(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 50mlを加え、初めに水ついで飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。濾過後、濾液を減圧濃縮し、

得られた濃縮物を下記条件で液体クロマトグラフィーを用いて分離した。

(分離条件)

カラム：柴田科学製ガラスカラム 24φ×360mm

充填剤：野村化学製 Develosil ODS 30-50

溶離液：メタノール-水=90:10(容量比)

流速：1.0ml/min

1フラクション：1.0ml

この結果、(-)-ゴッシボール 97mg(収率65.5%)を得た。また、比旋光度[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -423°(C=1.99、ベンゼン)であった。

(+)-ゴッシボール/(-)-フェニルアラニノールについても上記同様な分離を行なった。

すなわち、(+)-ゴッシボール/(-)-フェニルアラニノール 200mg、80%ジメトキシエタン溶液10ml、C-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10滴の混合物を上記と同様にして分離を行なった。

この結果、(+)-ゴッシボール 82mg(収率62.1%)を得た。また、比旋光度[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +416°(C=1.84、ベンゼン)であった。

#### [発明の効果]

以上説明したように、本発明の光学分割法によって、ゴッシボールのラセミ体から、(+または-)-ゴッシボールが高純度、高収率で、簡便に得られる。

このようにして得られた(+または-)-ゴッシボール、特に(-)-ゴッシボールは、精子抑制作用を有し、抗ガン作用も期待され、さらに官能基を導入することによって、これらの作用がさらに上昇する可能性が高いことから、本発明の光学分割法は、医学、薬学等の分野に適用可能である。

特許出願人 株式会社トーメン

代理人 弁理士 伊東辰雄

代理人 弁理士 伊東哲也